稻蝗属三近缘种间的生殖隔离机制及其进化意义*

朱道弘[1,2], ANDO Yoshikazu[2]
(1. 中南林学院资源与环境学院,湖南株洲 412006; 2. 弘前大学农学院昆虫学研究室,日本弘前 036-8561)

摘要: 通过对日本稻蝗、中华稻蝗台湾亚种和小翅稻蝗的种间交配、交配后精子传送等的研究,探讨了其生殖隔离机制及其进化意义。结果表明: 有共同分布区域的日本稻蝗与中华稻蝗台湾亚种及日本稻蝗与小翅稻蝗的交配率显著低于种内交配,即使交配也无精子的传送,存在强烈的行为隔离和完全的机械隔离。分布不重叠的中华稻蝗台湾亚种与小翅稻蝗之间,小翅稻蝗的雌虫与中华稻蝗台湾亚种雄虫的交配率显著低于种内交配,反向交配时则和种内交配率无显著差异;正反交配都能完成精子传送,显示出不对称、不完全的行为隔离,而无机械隔离的存在。分布不重叠的中华稻蝗台湾亚种与小翅稻蝗生殖隔离的进化速度慢于分布重叠的日本稻蝗与中华稻蝗台湾亚种及日本稻蝗与小翅稻蝗。

关键词: 稻蝗;生殖隔离;交配选择;精子传送;亲缘关系
中图分类号: Q969 **文献标识码**: A **文章编号**: 0454-6296(2004)01-0067-05

Reproductive isolation mechanisms between three *Oxya* species (Orthoptera: Catantopidae)*

ZHU Dao-Hong[1,2], ANDO Yoshikazu[2] (1. College of Resources and Environment, Central South Forestry University, Zhuzhou, Hunan 412006, China; 2. Laboratory of Entomology, Faculty of Agriculture, Hirosaki University, Hirosaki 036-8561, Japan)

Abstract: Three rice grasshoppers, *Oxya japonica*, *O. chinensis formosana* and *O. yezoensis* are extremely similar in morphology. Here we studied their reproductive isolation mechanisms by interspecific cross experiments. For sympatric species, ethological isolation was found to be strong, but not complete, in reciprocal crosses between *O. japonica* and *O. chinensis formosana*, and between *O. japonica* and *O. yezoensis*; however, even where mating had occurred there was no sperm transfer. For allopatric species, asymmetric ethological isolation was apparent in crosses between *O. chinensis formosana* and *O. yezoensis*: females of *O. chinensis formosana* readily accepted males of *O. yezoensis*, but females of *O. yezoensis* show reluctance to males of *O. chinensis formosana*; however, in either reciprocal cross sperms were transferred. These results supported the conclusion that reproductive isolation evolves slower in allopatric species or populations than sympatric species or populations.

Key words: Rice grasshoppers; *Oxya*; reproductive isolation; mating choice; sperm transfer; relationship

在生物界通常不会发生种间遗传物质的混杂和交流。换言之,营有性生殖的生物种间存在着生殖隔离。由于生殖隔离的存在,遗传物质的种间交流受到限制,而防止近缘种间杂种的形成。这种生殖隔离可分为避免杂种形成的交配前隔离(premating isolation)和虽能形成杂种、但杂种生存或生殖力低下的交配后隔离(postmating isolation)。交配前隔离包括不能与潜在的交配对象相遇(季节或栖息场所的隔离);虽能与潜在的交配对象相遇,但不能进行交配(行为或性的隔离);虽能交配,但不发生精子的传送(机械的隔离)。交配后隔离包括杂种不能生存,杂种不妊性及杂种妊性的衰减(Mayr, 1971)。

日本稻蝗 *Oxya japonica* (Thunberg)、中华稻蝗台湾亚种 *O. chinensis formosana* Shiraki 和小翅稻蝗 *O. yezoensis* Shiraki 都是重要的水稻害虫,其形态特征也极为相近。其中,日本稻蝗分布最广,分布于日本秋田县和岩手县南部以南的本土和琉球群岛、朝鲜半岛南部、中国河北省以南的亚洲大陆、台湾、夏威夷、菲律宾和印度尼西亚等地;小翅稻蝗分布于北海道南部至九州南部的日本本土;而中华稻蝗台湾亚

* 该文为第一作者在日本 Hirosaki University 攻读博士学位时研究内容的一部分
作者简介: 朱道弘,男,1963 年 11 月生,博士后,教授,研究方向为昆虫生理学、进化生态学,E-mail: daohongzhuja@yahoo.com.cn
收稿日期 Received: 2003-02-18; 接受日期 Accepted: 2003-06-14

种主要分布于我国的台湾和日本的琉球群岛。日本稻蝗和小翅稻蝗及日本稻蝗和中华稻蝗台湾亚种具共同分布区，而小翅稻蝗和中华稻蝗台湾亚种的分布不重叠（Fukuhara，1982a，1982b；Ando and Yamashiro，1993；Zhu and Ando，1998）。

应用分子生物学技术对蝗虫亲缘关系的研究已有一些报道（蒋国芳等，2002；任竹梅等，2003）。作者曾利用 RAPD-PCR 对几种稻蝗 DNA 多态性进行比较，探讨了其亲缘关系，结果表明，中华稻蝗台湾亚种与小翅稻蝗的亲缘关系最近，而日本稻蝗与中华稻蝗台湾亚种及日本稻蝗与小翅稻蝗亲缘关系较近，小稻蝗 *O. hyla intricate*（Stål）与其他3种的亲缘关系较远（朱道弘等，2001）。大町（1950）曾在野外观察到日本稻蝗和小翅稻蝗的种间交配。另据作者实验室观察，日本稻蝗和中华稻蝗台湾亚种及小翅稻蝗和中华稻蝗台湾亚种间也能进行交配，而小稻蝗与其他3种的交配较为少见（Zhu，1998）。但是，稻蝗的种间生殖隔离机制尚未见报道。我们通过对日本稻蝗、中华稻蝗台湾亚种和小翅稻蝗的种间杂交及其交配后精子的传送等的观察和研究，对其生殖隔离机制及其进化意义进行了探讨。

1 材料与方法

1.1 材料

日本稻蝗成虫于1995年8月采自日本冈山市郊外水田。中华稻蝗台湾亚种成虫于1993年12月采自日本冲绳岛水田。小翅稻蝗越冬卵于1994年11月采自日本弘前市郊外水田。然后于实验室按 Ando 和 Yamashiro（1993）及 Zhu 和 Ando（1998）的方法进行累代饲养，进行本研究时的饲养代数为3～5代。

1.2 雌成虫交配前期的观察

光周期14L:10D，温度25℃饲养的若虫羽化后，将羽化当日的雌成虫与10天前羽化的雄成虫配对饲养。羽化后第5天开始观察其交配情况，调查3种稻蝗的交配前期（羽化至初次交配的天数）。

1.3 种间交配选择

成虫羽化当日开始雌雄隔离饲养，性成熟后，3种稻蝗各1雌成虫分别同时与任意两种的各1雄成虫置于同一圆筒（直径9 cm，高18 cm）内饲养（25℃，14L:10D）（表1），观察其交配情况，记录何种雄虫与雌虫进行交配。为便于识别同一圆筒内的两种雄虫，于一种的雄虫前胸背板以指甲油进行标记。各交配处理设25个重复，连续3日（明期）每2 h观察一次。

1.4 交配与精子传送

3种稻蝗成虫羽化当日开始雌雄隔离饲养，性成熟后，种内、种间雌雄配对饲养，观察其交配情况。交配确认后48 h于生理盐水中解剖雌成虫，取出受精囊，置于滴有生理盐水的载玻片上用镊子充分捣碎，镜检有无精子。

1.5 交配时间的观察

日本稻蝗、小翅稻蝗羽化后20天、中华稻蝗台湾亚种羽化后30天的雌雄成虫配对，置于25℃、光周期14L:10D的条件下饲养，连续3天每小时观察1次，记录其交配情况。对3种稻蝗的交配时间（交配节律）进行了观察。暗期中借助红布遮住的手电筒进行观察。另外，幼虫期的饲养条件与成虫期同样，为25℃，光周期14L:10D。

2 结果与分析

2.1 雌成虫的交配前期

日本稻蝗的雌成虫羽化后第8天开始交配，第22天全部供试个体完成交配，平均交配前期为13.2±3.7天（平均±*SD*）。小翅稻蝗的雌成虫羽化后第8天开始交配，第24天全部供试个体完成交配，平均交配前期为12.4±3.2天，与日本稻蝗无显著差异（Mann-Whitney *U* test；$P > 0.05$）。分布于冲绳的中华稻蝗台湾亚种的雌成虫羽化后第12天开始交配，第45天全部供试个体才完成交配，平均交配前期为20.4±9.0天，显著长于日本稻蝗（Mann-Whitney *U* test; $P < 0.001$）和小翅稻蝗（Mann-Whitney *U* test; $P < 0.001$）（图1）。3种中栖息于亚热带、成虫寿命最长的中华稻蝗台湾亚种的交配前期较长，变异也较大。

2.2 种间交配选择及种间交配率

性成熟的未交配雌成虫1个体同时与2种性成熟的未交配雄成虫各1个体一起饲养，观察了3种稻蝗的种间交配选择情况（表1）。日本稻蝗雌虫，与同种和中华稻蝗台湾亚种、同种和小翅稻蝗雄虫同居时，只选择同种的雄虫交配；与中华稻蝗台湾亚种和小翅稻蝗雄虫同居时，则仅与小翅稻蝗的雄虫交配。中华稻蝗台湾亚种的雌虫，与日本稻蝗和同种雄虫同居时的交配频度是2:16，显著地选择同种的雄虫进行交配（χ^2-test，$P < 0.001$）；与日本稻蝗和小翅稻蝗雄虫同居时的交配频度是2:16，显著地选

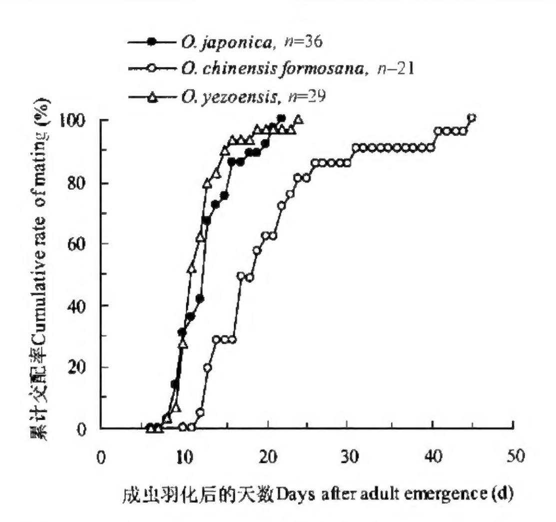


图 1　日本稻蝗、中华稻蝗台湾亚种及小翅稻蝗的交配前期（25℃，14L:10D）

Fig.1　Premating period of *O. japonica*, *O. chinensis formosana* and *O. yezoensis* (25℃, 14L:10D)

n:观察的对数 Number of tested pairs. 图 2 同 The same for Table 2.

择小翅稻蝗的雄虫进行交配（χ^2-test, $P<0.001$）；与同种和小翅稻蝗雄虫同居时的交配频度是 13:7，无显著差异（χ^2-test, $P>0.05$）。小翅稻蝗雌虫，与日本稻蝗和中华稻蝗台湾亚种雄虫同居时的交配频度是 1:7，倾向于选择中华稻蝗台湾亚种的雄虫进行交配（χ^2-test, $P<0.05$）；与日本稻蝗和同种的雄虫同居时，只选择同种的雄虫交配；与中华稻蝗台湾亚种和同种雄虫同居时的交配频度是 2:16，显著地选择同种的雄虫进行交配（χ^2-test, $P<0.001$）。

表 1　三种稻蝗的种间交配选择

Table 1　Mating choice among *Oxya japonica*, *O. chinensis formosana* and *O. yezoensisa*

♀ \ ♂	O.j + O.cf 交配对数 Mating Pairs		总交配率 Mating rate	O.j + O.y 交配对数 Mating Pairs		总交配率 Mating rate	O.cf + O.y 交配对数 Mating Pairs		总交配率 Mating rate
	O.j	O.cf	(%)	O.j	O.y	(%)	O.cf	O.y	(%)
O.j	20	0	80	22	0	88	0	8	32
	***			***			*		
O.cf	2	16	72	2	16	72	13	7	80
	***			***			NS		
O.y	1	7	32	0	20	80	2	16	72
	*			***			***		

注 Note：各处理观察 3 天，重复 25 次 Each test was observed for 3 days and comprised of 25 cases.

O.j = 日本稻蝗 *Oxya japonica*；O.cf = 中华稻蝗台湾亚种 *O. chinensis formosana*；O.y = 小翅稻蝗 *O. yezoensis*. 表 2 和表 3 同 The same for the following tables.

χ^2-test: *** $P<0.001$, * $P<0.05$；NS：表示无显著差异 No significant difference.

在实验室内，3 种稻蝗均能观察到种间交配。在上述观察中，种内及种间 3 日间的交配率如表 2 所示。在有它种雄虫存在的条件下，3 种稻蝗种内交配率分别为日本稻蝗 84%，中华稻蝗台湾亚种 58%，小翅稻蝗 72%。但日本稻蝗与中华稻蝗台湾亚种、日本稻蝗与小翅稻蝗的正反交的交配率为 0 ~ 16%，明显低于种内交配（χ^2-test，各自 $P<0.001$）。小翅稻蝗♀×中华稻蝗台湾亚种♂为 18%，也显著地低于种内交配（χ^2-test, $P<0.01$），而中华稻蝗台湾亚种♀×小翅稻蝗♂的交配率高达 46%，与种内交配无显著差异（χ^2-test, $P>0.05$）。

表 2　三种稻蝗的种内及种间交配率

Table 2　Intraspecific and interspecific mating rate in *Oxya japonica*, *O. chinensis formosana* and *O. yezoensis*

交配 Cross type ♀×♂	观察对数 Number of tested pairs	交配对数(3 日间) Noumber of mating pairs (for 3 days)	交配率 Rate of mating (%)
种内 Intraspecific			
O.j×O.j	50	42	84
O.cf×O.cf	50	29	58
O.y×O.y	50	36	72
种间 Interspecific			
O.j×O.cf	50	0	0
O.cf×O.j	50	4	8
O.j×O.y	50	8	16
O.y×O.j	50	1	2
O.cf×O.y	50	23	46
O.y×O.cf	50	9	18

2.3　种间交配与精子传送

3 种稻蝗未交配的性成熟雌雄成虫配对饲养，交配确认后（雄虫交配器向雌虫腹面弯曲，并与雌虫外生殖器连接）48 h 于生理盐水中解剖，种内、种间精子传送结果如表 3 所示。与同种雄虫交配后的雌成虫受精囊中，3 种稻蝗都能镜检到精子。日本稻蝗与中华稻蝗台湾亚种、日本稻蝗与小翅稻蝗的正反交配都未于雌虫受精囊中镜检到精子；而中华稻蝗台湾亚种与小翅稻蝗的正反交个体都顺利地完成了精子的传送。

2.4　交配时间

25℃（昼夜恒温）、光周期 14L:10D 的条件下，3 种稻蝗交配的频度分布如图 2 所示。尽管 3 种稻蝗都是昼行性昆虫，明期、暗期都进行交配。日本稻蝗明期的交配对数明显高于暗期，明期中未出现明显的交配峰期。中华稻蝗台湾亚种和小翅稻蝗明期、暗期交配频度几无差别，都能进行交配，也未出现明显的交配峰期。自然条件下，由于夜晚气温较低，交配频度可能降低，但可以认为，光周期对中华稻蝗台

湾亚种和小翅稻蝗的交配行为并无太大的影响。3种稻蝗就交配行为而言，相互间在时间段上并无交配节律的不吻合。

表3 三种稻蝗种内、种间交配后精子的传送

Table 3 Sperm transfer after intraspecific and interspecific mating in *Oxya japonica*, *O. chinensis formosana* and *O. yezoensis*

交配 Cross type ♀×♂	解剖雌虫数 Dissected females	精子传送雌虫数 Sperm-transfered females	精子传送率 Rate of sperm transfer (%)
种内 Intraspecific			
O.j×O.j	10	10	100
O.cf×O.cf	10	10	100
O.y×O.y	10	10	100
种间 Interspecific			
O.j×O.cf	13	0	0
O.cf×O.j	11	0	0
O.j×O.y	12	0	0
O.y×O.j	9	0	0
O.cf×O.y	10	10	100
O.y×O.cf	10	10	100

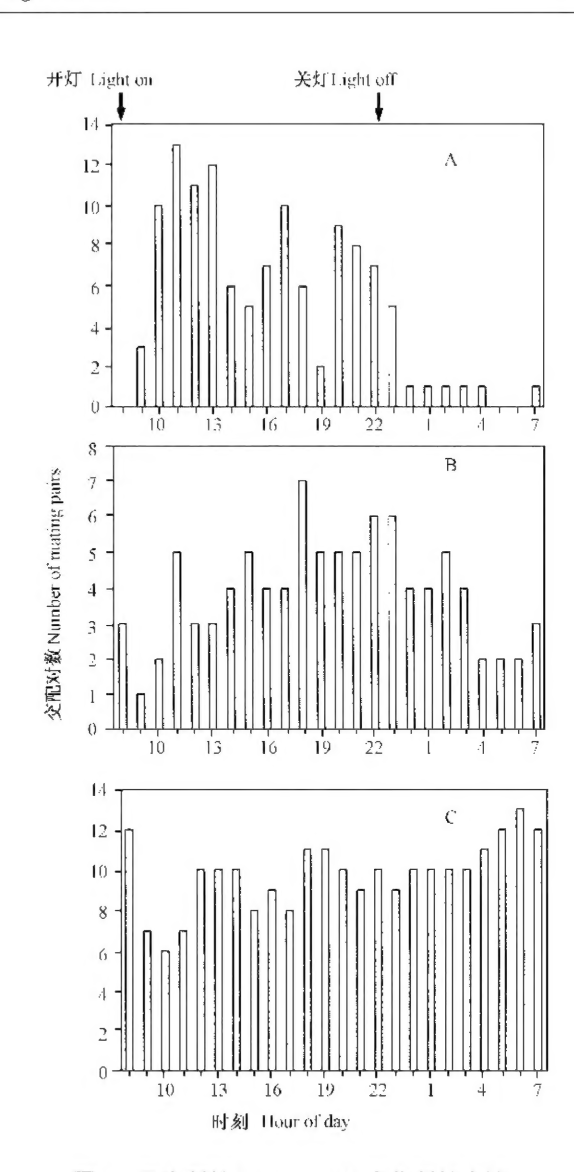


图2 日本稻蝗(A, $n=21$)、中华稻蝗台湾亚种(B, $n=32$)及小翅稻蝗(C, $n=36$)于明暗周期中的交配活动(25℃, 14L:10D)

Fig.2 Hourly mating activity in light-dark cycle (25℃, 14L:10D) of *Oxya japonica* (A, $n=21$), *O. chinensis formosana* (B, $n=32$) and *O. yezoensis* (C, $n=36$) (observed for 3 days)

3 结语与讨论

尽管3种稻蝗在实验室都能观察到种间交配，但雌成虫与2种雄成虫同居的情况下，日本稻蝗、小翅稻蝗的雌虫明显地选择同种的雄虫进行交配，日本稻蝗♀与中华稻蝗台湾亚种♂、日本稻蝗♀与小翅稻蝗♂正反杂交、小翅稻蝗♀×中华稻蝗台湾亚种♂交配难以进行，交配率显著地低于种内交配。而中华稻蝗台湾亚种♀×小翅稻蝗♂，交配率达46%，与种内交配无显著差异。表明分布重叠的日本稻蝗与中华稻蝗台湾亚种、日本稻蝗与小翅稻蝗存在着强烈的行为隔离，分布区域不同的中华稻蝗台湾亚种与小翅稻蝗，由于有栖息地的隔离，而显示不对称的、不完全的行为隔离。有研究表明，一些近缘种或种群的生殖隔离是由于相互间交配节律的不同，由于交配时间段的差异，而不能相互交配(Pashley *et al.*, 1992)。3种稻蝗在25℃的恒温条件下，明期、暗期均能进行交配，相互间在时间段上并无交配节律的不吻合。说明3种稻蝗是以其他的方式进行物种认知，判别同种、异种的雌雄，而选择交配对象。

昆虫的种类不同外生殖器的构造及机能往往千差万别，雌雄相对应存在着所谓"锁和钥匙"(lock and key)的关系。3种稻蝗除其他形态特征的差异外，雌雄外生殖器也存在着明显的不同(Fukuhara, 1982a, 1982b)。所以，种间交配并不意味着能成功地进行精子传送。我们的实验结果表明，交配率低下的日本稻蝗与中华稻蝗台湾亚种及日本稻蝗与小翅稻蝗之间，即使进行交配，也无精子传送，显示出完全的机械隔离。而中华稻蝗台湾亚种与小翅稻蝗交配后，精子的传送率完全等同于种内交配，都能成功地完成精子传送，并无机械隔离的机制。不仅如此，中华稻蝗台湾亚种与小翅稻蝗的正反交配都能获得有正常繁殖能力的F_1、F_2和F_3代杂种，且幼虫孵化率、成虫羽化率与种内交配无明显的区别(Zhu,

1998）。一般认为，物种分化与三个阶段的隔离和分化机制有关，即：（1）种群间的交配前隔离；（2）种群间的交配后隔离；（3）种群间的形态和生态分化。三个阶段的隔离和分化机制并不一定以同样的速度平行进化（Grimaldi *et al*.，1992）。3 种稻蝗的杂交情况为这种观点提供了有力的支持。此外，日本稻蝗与中华稻蝗台湾亚种、日本稻蝗与小翅稻蝗虽然仅表现出很低的交配率，但由于不能实现精子的传送，仅仅是一种能量的消耗，且交配时由于逃避能力降低，被捕食的危险性提高（Zhu and Tanaka，2002；Tanaka and Zhu，2003），显然，这种交配会降低雌雄的适应度，是一种被淘汰的特性。

近缘种的种间杂交是常见的现象，有些近缘种间甚至长期有杂种带的形成（蔡邦华等，1965；Mamiya，1986；赵清山等，1992；Leong and Hafernik，1992；Gregory and Howard，1993）。令人感兴趣的是 3 种稻蝗中，分布重叠的日本稻蝗与中华稻蝗台湾亚种、日本稻蝗与小翅稻蝗虽能进行交配，但交配率低，即使交配也无精子的传送；而分布不重叠的中华稻蝗台湾亚种与小翅稻蝗较易进行交配，交配后亦能顺利地进行精子传送，且能产生杂种后代。可以认为，分布不重叠的稻蝗种间生殖隔离的进化速度，不论是交配前隔离还是交配后隔离，都要慢于分布重叠的种。这种现象在果蝇的种间生殖隔离进化中，亦有发现（Coyne and Orr，1989；Grimaldi *et al*.，1992）。可以推测这种现象的原因之一在于：分布不重叠的近缘种的雌雄在自然生境中不能相遇，所以，因种间交配引起的消耗及遗传物质混杂的可能性很低，因而，在这种情况下，异种交配对象识别的进化对提高物种的适应度就没有什么积极意义了。

参 考 文 献（References）

Ando Y，Yamashiro C，1993. Outbreaks and delayed hatching after hibernation in the rice grasshopper，*Oxya yezoensis* Shiraki（Orthoptera：Catantopidae）. *Appl*. *Entomol*. *Zool*.，28：217－225.

Coyne J，Orr AHA，1989. Patterns of speciation in *Drosophila*. *Evolution*，43：362－381.

Fukuhara N，1982a. Notes for the identification of orthopteran rice pests in paddy field. *Plant Prot*.，36：524－528.（in Japanese）

Fukuhara N，1982b. Notes for the identification of orthopteran rice pests in paddy field. *Plant Prot*.，36：571－575.（in Japanese）

Gregory PG，Howard DJ，1993. Laboratory hybridization studies of *Allonemobius fasciatus* and *A*. *socius*（Orthoptera：Gryllidae）. *Ann*. *Entomol*. *Soc*. *Am*.，86：694－701.

Grimaldi D，James AC，Jaenike J，1992. Systematics and modes of reproductive isolation in the Holarctic *Drosophila testacea* species group（Diptera：Drosophilidae）. *Ann*. *Entomol*. *Soc*. *Am*.，85：671－685.

Jiang GF，Lu G，Huang K，Huang RB，2002. Studies on genetic variations and phylogenetic relationships among five species of *Tetrix* using RAPD markers. *Acta Entomologica Sinica*，45（4）：499－502.［蒋国芳，陆敢，黄琨，黄日波，2002. RAPD 标记研究蚱属五个种的亲缘关系. 昆虫学报，45（4）：499－502］

Leong JM，Hafernik JE Jr，1992. Hybridization between two damselfly species（Odonata：Coenagrionidae）：morphometric and genitalic differentiation. *Ann*. *Entomol*. *Soc*. *Am*.，85：662－670.

Mamiya Y，1986. Interspecific hybridization between *Bursaphelenchus xylophilus* and *B*. *mucronatus*（Aphelenchida：Aphelenchoididae）. *Appl*. *Ent*. *Zool*.，21：159－163.

Mayr E，1971. Population，species and evolution. Cambridge，USA：Harvard University Press.

Pashley DP，Hammond AM，Hardy TN，1992. Reproductive isolating mechanisms in fall armyworm host strains（Lepidoptera：Noctuidae）. *Ann*. *Entomol*. *Soc*. *Am*.，85：400－405.

Ren ZM，Ma EB，Guo YP，2003. Mitochondrial DNA sequences and relationship of *Oxya intricate* individuals from different parts of China. *Acta Entomologica Sinica*，46（1）：51－57.［任竹梅，马恩波，郭亚平，2003. 不同地域小稻蝗 mtDNA 部分序列及其相互关系. 昆虫学报，46（1）：51－57］

Tanaka S，Zhu DH，2003. Phase-related differences in mating strategy of a locust（Orthoptera：Acrididae）. *Ann*. *Entomol*. *Soc*. *Am*.，96（4）：498－502.

Tsai BH，Hou TQ，Sung SM，1965. Observations on the interspecific hybridization and hybrid biology of *Dendrolimus* spp.（Lepidoptera：Lasiocampidae）. *Acta Entomologica Sinica*，14（4）：347－358.［蔡邦华，侯陶谦，宋士美，1965. 松毛虫的种间杂交及杂种生物学的初步观察. 昆虫学报，14（4）：347－358］

Zhao QS，Wu WB，Lu GP，Yuan X，Li SK，Jiang JC，1992. Hybridization experiments with two species of *Dendrolimus*. *Acta Entomologica Sinica*，35（1）：28－32.［赵清山，邬文波，吕国平，袁星，李善奎，蒋家城，1992. 松毛虫的杂交遗传试验. 昆虫学报，35（1）：28－32］

Zhu DH，1998. The relationship and speciation in Japanese species of genus *Oxya*（Orthoptera：Catantopidae）. Ph. D thesis. Iwate Univ.，Morioka.（in Japanese）

Zhu DH，Ando Y，1998. Parthenogenesis in three species of genus *Oxya*. *Jpn*. *J*. *Appl*. *Entomol*. *Zool*.，42：65－69.（in Japanese）

Zhu DH, Ando Y, Shirota Y, 2001. Studies on the relationships among species in *Oxya* Serville (Orthoptera: Catantopidae) using random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Acta Entomologica Sinica*, 44(3): 316－320. [朱道弘,安藤喜一,城田安幸,2001. 利用RAPD对稻蝗属昆虫亲缘关系的研究. 昆虫学报,44(3): 316－320]

Zhu DH, Tanaka S, 2002. Prolonged precopulatory mounting increases the length of copulation and sperm precedence in *Locusta migratoria* (Orthoptera: Acrididae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 95: 370－373.

(责任编辑: 袁德成)